Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 627-636

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 636-627

بررسی اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*)

محمد فرهادی چیتگر[1]- مهران اعلمی[*2]- الناز میلانی[3] - یحیی مقصودلو[4]

تاریخ دریافت: 1394/09/12
تاریخ پذیرش: 1395/01/15

چکیده

زرشک بی‌دانه (*B. vulgaris*) یکی از محصولات تجاری مهم کشور محسوب می‌شود که به شکل‌های مختلف به‌ویژه عصاره مورد فرآوری و مصرف قرار می‌گیرد. در این مطالعه اثر فرایند فراصوت دمایی به‌عنوان یکی از تکنولوژی‌های نوظهور در دو شدت 18/32 و 27/62 وات بر سانتی‌مترمربع در دمای 45 درجه سانتی‌گراد و به‌مدت 5 و10 دقیقه بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این فرایند در تمام تیمارها باعث غیرفعال‌سازی کامل میکروارگانیسم‌ها شده است. میزان کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر پس از فرایند به ترتیب 0/10 ±3/68 و 0/48 ±3/34 سیکل لگاریتمی محاسبه شد. فرایند فراصوت دمایی به ویژه در شدت پایین (18/32 وات بر سانتی‌مترمربع) اثر ناچیزی بر میزان آنتوسیانین کل و رنگ عصاره زرشک داشت، ضمن این که افزایش معناداری (p<0/05) هم در ترکیبات فنلی کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده در این تیمارها مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که فرایند فراصوت دمایی می‌تواند جایگزینی برای فراوری حرارتی باشد.

واژه‌های کلیدی: فراصوت دمایی، خصوصیات کیفی، زرشک

مقدمه

زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*) یکی از محصولات کشاورزی بومی و با ارزش ایران است که به‌طور وسیعی درکشور به‌ویژه در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی کشت می‌شود (فرهادی و همکاران، 1393). امروزه تکنولوژی تولید فراورده‌های جانبی این محصول رو به گسترش است و فرآورده‌هایی نظیر مربا، مارمالاد، آبمیوه، نوشابه، سس و ژله به‌صورت محدود از آن تهیه می‌شود (بالندری و کافی، 1381). زرشک دارای ترکیبات فعال زیستی با اثرات درمانی می‌باشد و می‌توان از آن به‌طورگسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد. همچنین زرشک یکی از منابع غنی از آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنلی محسوب می‌شوند (فرهادی و همکاران، 1393). آنتوسیانین‌ها، مشتقات گلیکوزیدی پلی‌هیدروکسیلی متوکسیلی نمک‌های 2- فنیل بنزوپیریلیوم، رنگدانه غیرسمی و محلول در آب هستند که به‌طور گسترده‌ای در طبیعت یافت می‌شوند. این ترکیبات به‌دلیل داشتن گروه هیدروکسیل در موقعیت 3 حلقه C و موقعیت ´3 و ´4 از حلقه B دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (Svarcova, *et al.*, 2007). علاوه بر این امروزه به دلیل خواص فراوان دیگری نظیر خواص ضدسرطانی، ضد التهابی، ضد حساسیت و پیشگیری از انسداد شریان قلب، کاهش کلسترول و فشار خون بالا، مصرف آن‌ها در دنیا بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Wang & Stoner, 2008). یکی از مشکلات آنتوسیانین‌ها مسئله پایداری آن‌ها است که تحت تاثیر عوامل مختلف به‌ویژه دما می‌باشد (Rein, 2005). لذا حفظ این رنگدانه‌ها در محصولات حاوی آن‌ها، طی فرآوری و نگهداری اهمیت زیادی دارد. روش‌های فرآوری بر کیفیت، سلامت و زمان ماندگاری مواد غذایی تاثیرگذار هستند. فرایند حرارتی سلامت ماده غذایی را تضمین و زمان ماندگاری آن را بهبود می‌بخشد ولی بر خصوصیات تغذیه‌ای آن اثر منفی دارد (Gomez *et al.*, 2011). به همین دلیل امروزه محققان به دنبال روش‌های جدید فرآوری هستند که بدون اعمال حرارت یا همراه با حرارت ملایم باشد. کاربرد فراصوت با توان بالا به‌عنوان روشی جایگزین در فرآوری مواد غذایی مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Cruz *et al.*, 2008).

1، 2 و 4- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
3- استادیار، گروه فرآوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی.
(* - نویسنده مسئول (Email: Mehranalamogmail.com
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.51912

بهبود یکنواختی، اثر ناچیز بر طعم و ترکیبات مغذی و صرفه‌جویی در مصرف انرژی از مزایای این روش در مقایسه با فرایند حرارتی است (Chemat *et al.*, 2011). این تکنیک قادر است معیارهای مورد نیازسازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)[1] در مورد فرآوری آبمیوه‌ها که کاهش 5 سیکل لگاریتمی در تعداد میکروارگانیسم‌ها است را برآورده کند (Salleh-Mack & Roberts, 2007). مطالعات نشان داده است که فراصوت باعث ایجاد شکست سلول‌های میکروبی طی پدیده کاویتاسیون می‌شود، با این وجود فراصوت به‌تنهایی قادر به غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها به‌طور کامل نیست، لذا نیاز است به‌منظور کاهش بیشتر بار میکروبی با سایر روش‌ها همراه گردد. ترکیب فراصوت با حرارت ملایم (ترموسونیکاسیون) و فشار بالا (مانوسونیکاسیون) باعث افزایش غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Ortuño *et al.*, 2012). مطالعات متعددی در زمینه اثر فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی و کاهش بار میکروبی عصاره‌های سایر گیاهان انجام شده است. Alighourchi و همکاران (2014) گزارش کردند که فرایند فراصوت در دامنه 61 میکرومتر و دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه باعث کاهش 3/47 سیکل لگاریتمی در باکتری *اشریشیاکلی* تلقیح شده به آب انار گردید. Abid و همکاران (2014) گزارش نمودند که فرایند فراصوت دردمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 و 10 دقیقه منجر به غیرفعال‌سازی کامل باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرها در عصاره سیب گردید. Martínez-Flores و همکاران (2015) گزارش کردند که فرایند فراصوت دمایی در دمای50، 54 و 58 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه و در دامنه 120 میکرومتر ضمن غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها اثر معناداری بر کارتنوئیدها و اسید آسکوربیک آب هویج نداشته است. همچنین افزایشی جزئی در میزان استخراج ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در همه تیمارها مشاهده شده است.

با توجه به اثرات منفی فرایند حرارتی بر رنگ و میزان آنتوسیانین‌های عصاره زرشک، هدف از این مطالعه بررسی اثر فرایند فراصوت همراه با حرارت ملایم (ترموسونیکاسیون) بر غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها و خصوصیات کیفی عصاره زرشک نظیر میزان آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای رنگی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

زرشک بی‌دانه از باغات شهرستان قائن خریداری شد. پس از جداسازی برگ، خارها و میوه‌های صدمه دیده، توسط دستگاه پرس دستی، عصاره‌گیری و سپس با استفاده از صافی پارچه‌ای، صاف شدند. کلیه مواد شیمیایی با درجه تجزیه‌ای از سیگما-آلدریچ خریداری شدند.

فرایند فراصوت دمایی

برای انجام فرایند فراصوت دمایی از سیستم فراصوت مدل Sonopuls HD 3200 BANDELIN ساخت کشور آلمان با فرکانس 20کیلوهرتز، دامنه 120 میکرومتر و قطر پروب 13 میلی‌متر استفاده شد. 60 میلی‌لیتر عصاره زرشک در محفظه دو جداره دستگاه ریخته شد. در جداره داخلی محفظه، آب با دمای 4 درجه سانتی‌گراد به‌منظور جلوگیری از افزایش دمای عصاره طی فرایند، با سرعت 0/5لیتر بر دقیقه جریان داشت. پروب دستگاه در فاصله 20 میلی‌متر از عمق نمونه قرار داده شد. نمونه‌ها در دو تیمار 70 و 100% دامنه به مدت 5 و 10 دقیقه در دمای ثابت 45 درجه سانتی‌گراد و زمان پالس 15 ثانیه روشن و 5 ثانیه خاموش، فرایند شدند. تیمارها به‌صورت 5-TS[2]70، TS70-10، TS100-5 و TS100-10 نام‌گذاری شدند. نمونه بدون اعمال فرایند به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. محفظه دستگاه قبل از انجام هر تیمار با اتانول 70% ضدعفونی گردید و پس از فرایند، نمونه‌ها بلافاصله سرد و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

محاسبه شدت فرایند فراصوت

شدت فرایند فراصوت مطابق با روش Mason (1990) با استفاده از روش کالری‌متری تعیین شد. ابتدا توان مطلق دستگاه (P) از رابطه زیر محاسبه شد.

$$P= m\, c\, (dT/dt) \qquad (1)$$

P: توان مطلق دستگاه بر حسب وات

m: جرم نمونه فرایند شده بر حسب کیلوگرم

c: گرمای ویژه زرشک بر حسب کیلوژول برکیلوگرم در درجه سانتی‌گراد

dT/dt: تغییرات دما نسبت به زمان بر حسب درجه سانتی‌گراد بر ثانیه

پس از محاسبه توان مطلق دستگاه شدت فرایند فراصوت(UI) از رابطه زیر محاسبه شد:

$$UI = 4P/\pi D^2 \qquad (2)$$

UI: شدت فراصوت بر حسب وات بر سانتی‌مترمربع

D: قطر پروب دستگاه فراصوت بر حسب سانتی‌متر

شدت فراصوت به‌ترتیب 18/32 و 27/62 وات بر سانتی‌مترمربع برای تیمارهای 70 و 100% دامنه محاسبه شد.

---

1 Food and Drug Administration

2 Thermo-sonication

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

بریکس عصاره توسط رفراکتومتردستی، pH توسط pH متر دیجیتالی (Metrohmlab) و برای اندازه‌گیری اسیدیته از روش پتانسیومتری و تیتراسیون با سود 0/1 نرمال تا pH= 8/1 بر اساس گرم اسید مالیک در لیتر عصاره استفاده شد (AOAC, 1984).

آنتوسیانین کل

برای اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها ابتدا طیف جذبی آنتوسیانین‌های عصاره زرشک در بافر با pH= 1 در دامنه

300-700 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-160A مدل Shimadzu ترسیم گردید. با توجه به طیف جذبی بیشترین جذب در طول موج 499 نانومتر به‌دست آمد. میزان آنتوسیانین‌های کل نمونه‌ها بر اساس روش pH افتراقی توصیف شده توسط Lee و همکاران (2002) بدین صورت محاسبه شدند که ابتدا عصاره با بافرهای کلرید پتاسیم (pH=1) و استات سدیم (pH=4/5) رقیق و جذب آنها در طول موج ماکزیمم و طول موج 700 نانومتر قرائت شد، سپس از رابطه زیر میزان آنتوسیانین‌ها بر اساس پلارگونیدین 3- گلیکوزید تعیین گردید.

میزان آنتوسیانین کل= $A\times MW\times DF\times 1000/ Є\times L$ (3)

DF: فاکتور رقت

A: اختلاف بین دو جذب - $A = (A_{510} - A_{700})pH_{1.0} - (A_{510} - A_{700})pH_{4.5}$

MW: جرم مولکولی سیانیدین 3 -گلیکوزید

Є: جذب مولی(لیتر بر سانتی‌متر مول)

L: طول سل بر حسب سانتی‌متر

خاصیت آنتی اکسیدانی

خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس درصد مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد (Bae &Suh, 2007). درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط عصاره از طریق معادله زیر محاسبه شد.

درصد مهار رادیکال‌های آزاد = $[(A_0 - A_1)/A_0 \times 100]$ (4)

اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی

میزان کل ترکیبات فنلی با روش اصلاح‌شده فولین سیوکالچو انجام شد (Singleton & Rossi, 1965). 100میکرولیتر از عصاره‌های رقیق شده با 6 میلی‌لیتر آب مقطر و 500 میکرولیتر محلول فولین سیوکالچو مخلوط شده و پس از 30 ثانیه 1/5 میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم 20 درصد به آنها اضافه شد. میزان جذب نمونه پس از 2 ساعت نگهداری در دمای اتاق در طول موج 765 نانومتر خوانده شد.جهت رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد و میزان ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در 100 میلی عصاره بیان شد.

پارامترهای رنگی

اندازه‌گیری پارامترهای رنگی (L^*,a^*,b^*) عصاره توسط دستگاه رنگ‌سنج مدل (colorflux, USA) انجام شد (Alighourchi and Barzegar 2009). پارامترهای کروما (C^*) و تغییرات کلی رنگ (ΔE^*) از روابط زیر محاسبه شدند.

$$C^*= (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (5)$$

$$\Delta E^*=[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2] \quad (6)$$

آنالیز میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های فرایند شده و نمونه کنترل مطابق با روش استاندارد AOAC(1984) انجام شد. برای انجام شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها رقت مناسبی از نمونه‌ها به محیط کشت PCA (پلیت کانت آگار) اضافه و بعد از 48 ساعت انکوباسیون در دمای 30 درجه سانتی‌گراد شمارش انجام شد. برای آزمون کپک و مخمر نیز از محیط کشت PDA (پوتیتو دکستروز آگار) استفاده شد و نمونه‌ها پس از 5 روز انکوباسیون در دمای 25 درجه سانتی‌گراد شمارش شدند.

تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان گردید. اختلاف آماری معنادار در سطح احتمال 5 درصد بین خصوصیات کیفی نمونه‌ها از طریق آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS16.0 انجام گردید.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مقادیر pH، ماده جامد و اسیدیته عصاره زرشک فرایند نشده به‌ترتیب 3/65±0/37، 17/65±0/26 و 2/86±0/02 محاسبه شد (جدول1). اختلاف آماری معناداری در سطح (p<0/05) بین مقادیر pH، ماده جامد و اسیدیته در نمونه‌های فرایند شده و نمونه کنترل، مشاهده نشد.

سایر محققین نیز در بررسی اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عصاره‌های سیب (Abid *et al.*, 2014)، هویج (Martínez-Flores *et al.*, 2015)، لیمو (Bhat *et al.*, 2011) و انار (Alighourchi *et al.*, 2013) نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند.

جدول 1- اثر فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عصاره زرشک

تیمار	pH	اسیدیته[1]	ماده جامد
کنترل	$2/86\pm 0/02^{a}$	$3/65\pm 0/37^{a}$	$17/65\pm 0/26^{a}$
TS70-5	$2/84\pm 0/02^{a}$	$3/65\pm 0/31^{a}$	$17/71\pm 0/15^{a}$
TS70-10	$2/85\pm 0/03^{a}$	$3/65\pm 0/24^{a}$	$17/81\pm 0/18^{a}$
TS100-5	$2/85\pm 0/01^{a}$	$3/64\pm 0/29^{a}$	$17/83\pm 0/25^{a}$
TS100-10	$2/85\pm 0/01^{a}$	$3/63\pm 0/33^{a}$	$17/90\pm 0/22^{a}$

حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی دار بودن اختلافات در سطح احتمال 5 درصد است.

1- بر حسب گرم مالیک اسید بر 100 گرم عصاره

آنتوسیانین کل

اختلاف آماری معناداری ($p< 0/05$) بین میزان آنتوسیانین کل در نمونه کنترل و نمونه‌های فرایند شده (به‌غیر از نمونه TS100-10) مشاهده نشد. میزان تخریب آنتوسیانین‌ها پس از فرایند فراصوت دمایی به‌ترتیب 0/03درصد،1/14درصد، 1/56درصد و10/79درصد در نمونه‌های TS70-5، TS70-10، TS100-5 و TS100-10 محاسبه شد. زرشک به‌عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتوسیانینی مطرح است و حفظ این ترکیبات طی فرآوری علاوه بر افزایش خواص عملگر باعث بهبود رنگ عصاره حاصل نیز می‌شود. آنتوسیانین‌ها ترکیبات بسیار حساسی به تغییرات شدید فرایند نظیر دما، pH، نور، اکسیژن و حضور آنزیم‌ها هستند،از این رو مستعد به تخریب و افت خواص می‌باشند (Tiwari *et al.*, 2010). Patras و همکاران (2010) تخریب آنتوسیانین‌ها طی فرایند حرارتی را به باز شدن حلقه پیریلیوم و تشکیل چالکون‌ها نسبت دادند. تشکیل چالکون‌ها امروزه به‌عنوان اولین مرحله از تخریب آنتوسیانین‌ها شناخته می‌شود. مرحله بعدی تخریب، همراه با تشکیل ترکیباتی نظیرآلدئید، فلوئورگلوسینول و پروکاتچوئیک اسید است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که فرایند فراصوت دمایی اثر نامطلوبی بر میزان آنتوسیانین‌های عصاره زرشک نداشته است. Tiwari و همکاران (2009) گزارش کردند که فرایند فراصوت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد اثر معناداری بر میزان آنتوسیانین‌های عصاره توت‌سیاه نداشته است و بیشترین میزان تخریب آنتوسیانین‌ها را 6 درصد در ماکزیمم شرایط فرایند یعنی دامنه 100 درصد به مدت 10 دقیقه به‌دست آوردند. همچنین این محققان در مطالعه دیگری بیان کردند که فرایند فراصوت در شدت کم و زمان‌های کوتاه باعث افزایش جزئی در میزان آنتوسیانین‌های عصاره انگور قرمز شده است. علت این پدیده به استخراج آنتوسیانین‌ها از ذرات معلق در عصاره در اثر فرایند فراصوت نسبت داده شد (Tiwari *et al.*, 2010). Herceg و همکاران (2013) اثر فرایند فراصوت دمایی در دانسیته انرژی صوتی 12/65-67/68 وات بر مترمربع و دمای 55-25درجه سانتی‌گراد و زمان 9-3 دقیقه و فرایند حرارتی (85 درجه سانتی‌گراد به مدت 20 دقیقه)را بر پروفایل آنتوسیانین‌های عصاره توت فرنگی بررسی کردند. نتایج نشان داد که فرایند حرارتی باعث تخریب 7/4 درصدآنتوسیانین‌ها شده است در صورتی که در فرایند فراصوت دمایی درصد تخریب بین 6/4-6 درصد بود. شدیدترین تیمار یعنی دمای 55 درجه به مدت 9 دقیقه نیز باعث تخریب 9- 8/5 درصد آنتوسیانین‌ها شده بود.

جدول 2- فرایند فراصوت دمایی برمیزان آنتوسیانین، ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک

تیمار	آنتوسیانین کل (میلی‌گرم بر لیتر عصاره)	فنل کل (میلی‌گرم بر100میلی‌لیتر عصاره)	فعالیت آنتی اکسیدانی (%)
کنترل	$662/92\pm 8/54^{a}$	$1125/71\pm 9/45^{b}$	$83/79\pm 0/76^{c}$
TS70-5	$660/54\pm 7/23^{a}$	$1273/93\pm 6/71^{a}$	$88/72\pm 1/10^{a}$
TS70-10	$655/31\pm 9/11^{a}$	$1266/79\pm 5/52^{a}$	$86/60\pm 0/83^{b}$
TS100-5	$652/59\pm 6/41^{a}$	$1077/50\pm 7/45^{c}$	$81/72\pm 0/54^{d}$
TS100-10	$591/38\pm 8/38^{b}$	$1009/64\pm 7/57^{c}$	$81/47\pm 0/62^{d}$

Sadilova و همکاران (2007) گزارش کردند که رادیکال‌های آزاد هیدروکسیلی تشکیل شده طی پدیده کاویتاسیون با باز کردن حلقه آنتوسیانین‌ها و تشکیل چالکون‌ها باعث تخریب آن‌ها می‌شوند.

فنل کل و خاصیت آنتی‌اکسیدانی

اثر فرایند فراصوت دمایی بر میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک در جدول 2 نشان داده شده است. میزان ترکیبات فنلی کل عصاره زرشک 1125/71 میلی‌گرم بر100 میلی‌لیتر عصاره محاسبه شد. افزایش معناداری (p<0/05) در ترکیبات فنلی کل نمونه‌های TS70-5 و TS70-10 مشاهده شد. پژوهش‌های پیشین نیز به افزایش ترکیبات فنلی در عصاره‌های شاتوت (Mohideen *et al.*, 2014)، گریپ‌فروت (Zafra-Rojas *et al.*, 2013) و سیب (Abid *et al.*, 2014) پس از فرایند با فراصوت در شدت‌های پایین اشاره داشته‌اند. بیشترین میزان ترکیبات فنلی کل برای نمونه TS70-5 محاسبه شد (1273/93میلی‌گرم بر100 میلی‌لیتر). در نمونه‌های فرایند شده با شدت بالاتر به ویژه TS100-10 ترکیبات فنلی کل به‌طور معناداری کاهش پیدا کرد. تشکیل رادیکال‌های آزاد که در شدت‌های بالاتر فراصوت تسریع می‌شود، می‌تواند دلیل کاهش ترکیبات فنلی در این نمونه‌ها باشد. افزایش ترکیبات فنلی در عصاره‌ها پس از تیمار با شدت‌های پایین فراصوت به استخراج ترکیبات فنلی از ذرات معلق در عصاره نسبت داده شده است (Patras *et al*.2010; Bhat *et al*., 2011). Ashokkumar و همکاران (2008) نیز علت افزایش ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها پس از تیمار با فراصوت را به هیدروکسیله شدن در موقعیت‌های پارا، متا یا اورتو منوفنل‌ها نسبت داده‌اند. خاصیت آنتی‌اکسیدانی 83/79% برای نمونه کنترل به‌دست آمد. در اینجا نیز افزایش معناداری در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده با شدت پایین و کاهش معناداری در خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های فرایند شده با شدت بالا مشاهد شد. سایر محققین نیز به افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فرایند شده با فراصوت اشاره کرده‌اند (Golmohamadi *et al.*, 2013; Bhat *et al.*, 2011). علت این افزایش را می‌توان به همبستگی بالایی که بین ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد نسبت داد (Zheng&Wang, 2003).

پارامترهای رنگی

رنگ یکی از مهمترین فاکتورهایی کیفی جهت ارزیابی کیفیت محصولات غذایی محسوب می‌شود. سیستم رنگی CIEL*a*b* ابزار مهم وکارایی برای بررسی اثر فرایندهای مختلف بر روی مواد غذایی به‌ویژه عصاره‌ها می‌باشد (Wrolstad *et al.*, 2005). فرایند فراصوت دمایی اثر معناداری (p<0/05) بر پارامترهای رنگی عصاره زرشک در مقایسه با نمونه کنترل داشته است (جدول 3). نتایج مشابهی توسط Herceg و همکاران (2013) در مورد اثر فراصوت دمایی بر پارامترهای رنگی عصاره توت‌فرنگی گزارش شده است. کمترین تغییرات در پارامترهای رنگی در نمونه TS70-5 و بیشترین تغییرات در نمونه TS100-10 مشاهده شد. Tiwari و همکاران (2008) بیان کردند که شدت اولتراسوند و زمان اثر معناداری بر پارامترهای رنگی عصاره توت فرنگی طی فرآوری با فراصوت داشته است. شرایط فیزیکی شدیدی که طی فرایند کاویتاسیون ایجاد می‌شود یکی از دلایل تخریب رنگ عصاره‌های تیمار شده با فراصوت دانسته شده است (Suslick, 1989). همچنین تخریب آنتوسیانین‌ها و تشکیل ترکیبات پلیمری (در اثر حرارت و یا ناشی از رادیکال‌های آزاد تشکیل شده طی فراصوت) دلیل دیگری برکاهش پارامترهای رنگی در عصاره‌های حاوی آنتوسیانین بیان شده است (Portenlänger & Heusinger, 1992). با توجه به پارامتر ΔE^* تفاوت کلی رنگ بین نمونه‌های فرایند شده و نمونه فرایند نشده به چهار دسته اندکی قابل توجه (ΔE^*<1/5)، قابل توجه (1/5<ΔE^*<3)، به‌خوبی قابل مشاهده (3<ΔE^*<6) و خیلی زیاد (6<ΔE^*<12) تقسیم‌بندی می‌شود (Cserhalmi *et al.*, 2006). طبق جدول 3 تیمار TS70-5 باعث ایجاد تغییرات رنگ در محدوده قابل توجه و سایر تیمارها باعث ایجاد تغییرات رنگی شدند که به‌خوبی با چشم قابل مشاهده می‌باشد. Engmann و همکاران(2013) گزارش کردند که فراصوت در فرکانس‌های 26-22 کیلوهرتز و زمان 30-10 دقیقه باعث ایجاد تغییرات کلی رنگ در محدوده 9/12-1/34 در عصاره زمان 10-3 دقیقه شاتوت شده است.

در عصاره توت‌سیاه تغییرات کلی رنگ را 4/68-3/20 گزارش کردند. اگرچه فرایند فراصوت دمایی در پارامترهای این

Tiwari و همکاران (2009) نیز در بررسی اثر فراصوت در شدت 22/79-9/24 وات بر سانتی‌مترمربع بر عصاره توت‌سیاه گزارش کردندکه شدت‌های بالا اثر منفی بر رنگ عصاره توت‌سیاه داشته است ولی با توجه به سایر مزایای این فرایند با بهینه‌سازی شرایط فرایند (دما، زمان و شدت) می‌توان به تیمارهای مطلوب دست پیدا کرد.

غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها:

فرایند فراصوت دمایی در همه تیمارهای مورد بررسی اثر معناداری (p<0/05) در کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمرها داشته است. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و تعداد کپک و مخمر در نمونه کنترل به‌ترتیب 3/68± 0/1 log CFU و 3/34± 0/48 log CFU بود. غیرفعال‌سازی کامل در شمارش میکروارگانیسم‌ها در همه تیمارها حاصل شد. Patil و همکاران (2009)گزارش کردند که فراصوت در دامنه 0/4-37/5 میکرومتر باعث کاهش 5 سیکل لگاریتمی در باکتری *اشرشیاکلای* می‌شود. Bermúdez-Aguirre و Barbosa-Cánovas (2012) گزارش کردند که فرایند فراصوت دمایی (در دمای 50 و 60 درجه سانتی‌گراد

و در دانسیته انرژی صوتی 4/49-2/92 وات برمیلی‌لیتر) باعث 5/7-5/1 سیکل لگاریتمی کاهش در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* عصاره‌های انگور، آناناس و قره قاط شده است. Herceg و همکاران (2013) نیز ٪100-58 غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها را در عصاره توت‌فرنگی که در معرض فرایند فراصوت دمایی در دانسیته انرژی صوتی 67/68-12/65 وات بر مترمربع و دمای 55-25درجه قرار گرفته بود را گزارش کردند. اثر ضدمیکروبی فرایند فراصوت دمایی به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی طی پدیده کاویتاسیون و از دست رفتن قدرت انتخاب‌گری ایجاد نقاط داغ (Suslick, 1989) و رادیکال‌های آزاد نسبت داده شده است (Butz & Tauscher, 2002).

جدول 3- اثر فرایند فراصوت دمایی بر پارامترهای رنگی عصاره زرشک

تیمار	ΔE^*	b*	a*	L*
کنترل	-	17/50± 0/04[a]	33/89± 0/12[a]	12/18± 0/04[a]
TS70-5	2/94± 0/19[c]	16/68± 0/03[b]	31/41± 0/09[b]	10/65± 0/02[b]
TS70-10	3/64± 0/12[b]	16/51± 0/06[b]	30/88± 0/07[c]	10/39± 0/04[c]
TS100-5	4/20± 0/07[a]	16/24±0/07[c]	30/38± 0/19[d]	10/25± 0/03[c]
TS100-10	4/40± 0/11[a]	16/20±7/57[c]	30/24± 0/46[d]	10/09± 0/04[d]

جدول 4- اثر فرایند فراصوت دمایی بر غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌های

تیمار	شمارش کلی میکروارگانیسم ها	شمارش کپک و مخمر
کنترل	3/68± 0/1[a]	3/34± 0/48[a]
TS70-5	[1]ND[b]	ND[b]
TS70-10	ND[b]	ND[b]
TS100-5	ND[b]	ND[b]
TS100-10	ND[b]	ND[b]

عصاره زرشک

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اثر تیمارهای مختلف فرایند فراصوت دمایی بر خصوصیات کیفی عصاره زرشک بی‌دانه مورد بررسی قرار گرفت. این فرایند به‌ویژه در شدت‌های پایین ضمن غیرفعال‌سازی کامل میکروارگانیسم‌ها اثر ناچیزی بر رنگ و میزان آنتوسیانین‌های زرشک داشت. همچنین این فرایند میزان ترکیبات فنلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره زرشک را افزایش داد. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که فرایند فراصوت دمایی به‌دلیل اثرات تخریبی کم بر عصاره زرشک می‌تواند جایگزین مناسبی برای فرایند حرارتی باشد، هرچند مطالعات بیشتری در زمینه بهینه‌سازی شرایط فرایند ضروری به‌نظر می‌رسد.

منابع

بالندری، الف.، و کافی، م.، 1381، زرشک فناوری تولید و فرآوری، ناشر زبان و ادب مشهد، 41-18.

فرهادی چیتگر، م.، وریدی، م.، وریدی، م.ج.، و بالندری، احمد.، 1393، مقایسه برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی سه ژنوتیپ زرشک بومی استان سمنان. پژوهش های علوم وصنایع غذایی ایران(در نوبت چاپ)

Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M.M., Wu, T., Lei, S., Ammar Khana, M. & Zeng, X., 2014. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 984–990.

Alighourchi, H.,& Barzegar, M., 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanins of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90, 179-185.

Alighourchi, H., Barzegar, M., Sahari, M. A. & Abbasi, S., 2014. Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 20, 1703-1709.

AOAC. 1984. *Bacteriological Analytical Manual* (6th ed.). Washington, DC.

Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L. & Vilkhu, K., 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 155-160.

Bae, S.H. & Suh, H.J., 2007. Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea. LWT – *Food Science & Technology*, 40, 955-962.

Bermúdez-Aguirre, D. & Barbosa-Cánovas, G.V., 2012. Inactivation of Saccharomyces cerevisiae in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108, 383–392.

Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L. & Karim, A. A., 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1295-1300.

Butz, P., Tauscher, B., 2002. Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35, 279-284.

Chemat, F., Zill-E, H. & Khan, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. *Ultrasonic Sonochemistry*, 18, 813-835.

Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, & C.L.M., 2008. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 9, 483-488.

Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, A., Tóth-Markus, M., Lechner, N., 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. Innovative Food Science&Emerging Technologies, 7, 49–54.

Engmann F., Ma, Y., Tchabo, W. & Ma, H., 2013. Ultersonication treatment effect on anthocyanins, color, microorganisms and enzyme inactivation of mulberry (*Moroseae niger*a) Juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 1-9.

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J. & Nindo, C., 2013. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1316–1323.

Gómez, P.L., Welti-Chanes, J. & Alzamora. S.M., 2011. Hurdle technology in fruit processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 447-465.

Herceg, Z., Lelas, V., Jambrak, A.R., Vukušić, T. & Levaj, B., 2013. Influence of thermosonication on microbiological safety, color and anthocyanins content of strawberry juice. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4, 26-37.

Lee, J., Durst, R. W. & Wrolstad, R. E. 2002., Impact of juice processing on blueberry anthocyanins and polyphenolics: comparison of two pretreatments. *Journal of Food Science*, 67, 1660-1667.

Mason, T.J. 1990. Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry. Royal Society of Chemistry, Cambridge, *England*, pp 120-130.

Martínez-Flores, H.E., Garnica-Romo, M.G., Bermúdez-Aguirre, D., Raj Pokhrel, P. & Barbosa-Canovas, G.V., 2015. Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172, 650-656.

Mohideen, F.W., Mis Solval, K., Li, J., Zhang, J., Chouljenko, A., Chotiko, A., Prudente, Bankston, J.D. & Sathivel, S., 2014. Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. LWT *Food Science and Technology*, 60, 1-8.

Ortuno, C., Martínez-Pastor, M. T., Mulet, A. & Benedito, J., 2012. An ultrasound-enhanced system for microbial inactivation using supercritical carbon dioxide. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 15, 31-37.

Patil, S., Bourke, P., Kelly, B., Frías, J.M. & Cullen, P.J., 2009.The effects of acid adaptation on Escherichia coli inactivation using power ultrasound. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 10, 486-490.

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. & Tiwari, B., 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 3-11.

Portenlänger, G. & Heusinger, H., 1992. Chemical reactions induced by ultrasound and Gamma-rays in aqueous solutions of L-ascorbic acid. *Carbohydrate Research*, 232, 291-301.

Rein, M., 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. Helsinki University of Helsinki. pp. 10-14.

Sadilova, E., Carle, R. & Stintzing, F.C., 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51, 1461-1471.

Salleh-Mack, S.Z. & Roberts, J.S., 2007. Ultrasound pasteurization: the effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of Escherichia coli ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 323–329.

Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phospholungistic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.

Suslick, K.S., 1989.The chemical effects of ultrasound. Scientific American, 80–87.

Svarcova, I.; Heinrich, J. & Valentova, K., 2007. Berry fruits as a source of biologically active compounds: the case of Lonicera caerulea. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky Olomouc Czech Republic, 151, 163-174.

Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Patras, A., Brunton, N. & Cullen, P. J., 2008. Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228, 717-724.

Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P. & Cullen, P. J., 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93, 166−171.

Tiwari, B., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. & O'Donnell, C., 2010. Effect of ultra-sound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 598-604.

Wang, L.S. & Stoner, G.D., 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention. Cancer Letters, 269, 281-290.

Wrolstad, R. E., Durst, R. W. & Lee, J., 2005. Tracking Colour and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science and Technology, 16, 423-428*.

Zafrarojas, Q.Y., Cruzcansino, N., Ramirezmoreno, E., Delgadoolivares, L.,Villanueva- Sanchez, J, and Alanisgarcia, R., 2013. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (Opuntia ficus-indica) juice. *Ultrasonic Sonochemistry*. 20, 1283-1288.

Zheng, W., & Wang, S. Y., 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 502-509.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 13, No. 4, Oct- Nov 2017, p. 627-636

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 13، شماره 4، مهر - آبان 1396، ص. 636-627

Effect of Thermo-sonication on Quality Properties of Barberry (*Berberis vulgaris*) Juice

M. Farhadi[1] Chitgar, M. Aalami[2*], E. Milani[3], Y. Maghsoudlo[4]

Received: 2015.12.03
Accepted: 2016.04.03

Introduction: Barberry (*Berberis vulgaris*) from the distant past has been used as one of the main medicinal plants in Iran and many other countries. Currently, it has been known for pharmaceutical active compounds such as berberine, which has wide application in pharmaceutical industry. Barberry fruits are used in preparing sauces, jellies, candies, marmalades and especially fruit juices. Also, the fruit contains health promoting compounds such as polyphenols and anthocyanins. Anthocyanins are bioactive compounds present in many fruits, vegetables and their products. They are responsible for the wide array of colors present in flowers, petals, leaves, fruits and vegetables and are a sub-group within the flavanoids characterized by a C_6-C_3-C_6 skeleton. A substantial property of anthocyanin is their antioxidant activity, which plays an important role in prevention of neuronal and cardiovascular illnesses, cancer and diabetes, among others. Therefore, preservation of these compounds during processing of barberry juice is very important. Conventional thermal pasteurization is the common preservation technique used for fruit juice processing. Although this method inactivates microorganisms and enzymes causing spoilage and extends the shelf life of juices, but also it causes degradation of anthocyanins and loss of the nutritional quality of these products. Moreover, the increasing demand for natural and fresh fruit juice resulted in the development of various non-thermal technologies, such as radiation processing, osmotic dehydration, pulse electric field, sonication and high pressure. Power ultrasound has shown important advances in food processing and has a potential to meet the FDA requirement of a 5 log reduction in pertinent microorganisms found in fruit juice**.** Physical (cavitation, micromechanical shocks and mechanical effects) and chemical (formation of free radicals) mechanisms are responsible for the biocidal effect of sonication. Other advantages of this technology include low cost, reduced processing time and environmentally friendly technique**.** However, ultrasound by itself is not very effective for microbial inactivation and the use of other technologies during sonication such as temperature (thermo-sonication) and pressure (mano-sonication) has shown efficient results in inactivation of microorganisms. Thermosonication has been reported as an alternative to thermal pasteurization for processing of fruit juices such as strawberry juice, blackberry juice and orange juice. According to the negative effect of thermal processing on color and anthocyanins of barberry juice this study aimed to evaluate the effect of thermo-sonication as an emerging technology in two intensities 18.32 and 27.62 W/cm2 at 45°C for 5 and 10 minutes on the quality of barberry juice.

Material and methods: Barberry (*B. vulgaris*) ripe fresh fruits were collected from gardens of Qaen. Fruits were crushed into pieces in an electric blender. The mixture was then filtered through a nylon filter and kept in dark condition at 4°C before subjecting to thermosonication. Barberry juice was sonicated at 200W capacity batch sonication system (Sonopuls HD 3200 BANDELIN, Germany) and a constant frequency of 20 kHz with a 13mm probe. Barberry juice samples of 60 mL were placed in a 100 mL double wall cylindrical vessel pyrex glass through which water at 4±1°C and a flow rate of 0.5 L/min was circulated to attain a constant temperature in the juice sample during sonication. The samples were sonicated at 70 and 100% amplitudes levels for 10 and 15 min at 45°C with pulse durations of 15s on and 5s off (US70-5, US70-10, US100-5 and US100-10). After the sonication treatment, juice samples were kept in sterilized bottles and were stored at 4°C until further analysis. Total anthocyanin content of barberry juice was determined by the pH differential method and the color of juice samples was determined using a Chroma Meter (Color Flux, USA). The color values were expressed as L* (lightness), a* (redness/greenness) and b* (yellowness/blueness). The total phenolic content and antioxidant activity was determined by modified Folin–Ciocalteu method and DPPH radical scavenging activity. The counting of microorganisms was made using standard techniques (AOAC 1984), and included total plate counts and yeasts and molds. All experiments were carried out in at least three replicates and the results were expressed

1, 2 and 4. PhD Student, Associate Professor and Professor , Department of Food Science and Technology, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Assistant Professor, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) Mashhad- Iran.
(*Corresponding Author Email: Mehranalamogmail.com)

as mean ± SD. The significant differences between mean values of juice samples were determined by analysis of variance (one way-ANOVA) using Dunkan's test at a significance level of $P< 0.05$. Data evaluation was performed using the SPSS software version16.

Results and discussion: The result showed that the processing in all treatments completely inactivated the microbial population. The reduction of total plate counts and yeast and mold counts after processing was equal to 3.68±0.1 and 3.34±0.48, respectively. Thermo-sonication, especially in low intensity (32/18 w/cm2) had little effect on total anthocyanin compounds of barberry juice. The losses in total anthocyanin content of juice samples were 0.03%, 1.14%, 1.56% and 10.79% in TS-70-5, TS-70-10, TS-100-5 and TS-100-10, respectively. Hydroxyl radicals produced by cavitation can be involved in the degradation of anthocyanins by opening of rings and formation of chalcone. Thermosonication had significant effect on color parameters of barberry juice. All the color values (L*, a*, b* and C*) of barberry juice treated with thermosonication treatment were decreased as compared to control. The color loss of barberry juice samples decreased with increasing the amplitude and time of thermosonication. Extreme physical conditions which occur within the bubbles during cavitational collapse at micro-scale reaction may be responsible for the degradation of color in fruit juices. A significant increase ($p<0.05$) in both total phenolic content and antioxidant activity of samples treated at TS-70-5 and TS-70-10 was observed. However, higher amplitude significantly decreased the total phenolic content and antioxidant activity of barberry juice. It has been shown the enhancement of total phenolic content in juices after sonication might be attributed to the facilitation the release of bound phenolic present in the suspended particles. Since there is a correlation between total phenolic content and antioxidant activity, the extraction of bound polyphenols due to cavitation can be presumed the increase in antioxidant activity. The result of this study showed that thermo-sonication could be used as an alternative to thermal treatment.

Keywords: Barberry juice, Quality properties, Thermosoniation